

脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療による脳由来神経栄養因子の発現促進と神経保護効果の検討

著者	松田 倫治
号	88
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3916号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126382

氏名	まつだ みちはる 松田 倫治
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成31年3月27日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療による 脳由来神経栄養因子の発現促進と神経保護効果の検討
論文審査委員	主査 教授 井樋 栄二 教授 相場 節也 教授 館 正弘

論文内容要旨

背景：体外衝撃波治療は臨床で広く用いられている。臨床的には結石破碎療法をはじめとして、心筋梗塞や狭心症などの虚血性疾患や足底腱膜炎、アキレス腱付着部炎などの筋骨格系領域でも使用されている。なかでも低出力の体外衝撃波照射は、虚血性心疾患や皮膚潰瘍モデルでVEGF(vascular endothelial growth factor：血管内皮細胞増殖因子)の発現を亢進させ血管新生を促進し組織修復および症状改善の効果があると報告されている。また低出力体外衝撃波はVEGF以外にもFGF-2(fibroblast growth factor 2；線維芽細胞増殖因子)など成長因子やBDNF(brain-derived neurotrophic factor；脳由来神経栄養因子)などの神経栄養因子の発現を促進して、骨折偽関節の骨癒合促進や、末梢神経障害の機能改善の効果があることも報告されている。過去の報告から、BDNFは脊髄損傷において損傷部で神経保護作用をもたらす、運動機能障害を改善する効果をもつことが広く知られている。私の先行研究でラット脊髄損傷モデルに対する低出力体外衝撃波照射がVEGFの発現を促進させて、神経組織障害を抑制することが報告されている。しかし、脊髄損傷への低出力体外衝撃波によるBDNFの発現の変化とその治療効果については明らかになっていなかった。

目的：脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療が代表的な神経栄養因子であるBDNFのタンパク発現を促進するか否かを評価し、神経保護効果をもたらすか組織学的に検討した。さらに運動機能、知覚機能に加えて電気生理学的な改善効果についても検討した。

方法：生体雌SDラットを以下の3群に分けた：SCI群(脊髄損傷のみの群)、SCI-SW群(脊髄損傷後に低出力衝撃波を照射)、Sham群(椎弓切除のみ。脊髄損傷なし)。脊髄損傷作製装置で第10胸椎

レベルに脊髄損傷モデルを作製した。SCI-SW群では低出力衝撃波は週3回、3週間、計9回の照射を行い、損傷部の皮膚上から照射した。損傷後7日目の脊髄組織におけるBDNFの発現をELISA法と免疫蛍光染色を用いて評価した。またBDNFと各神経系細胞マーカーの二重染色を行い、損傷部におけるBDNF発現の局在を調べた。低出力対外衝撃波による神経保護効果を評価するために損傷後42日目の組織を用いてluxol fast blue染色による残存白質面積の評価、Olig2染色による残存オリゴデンドロサイトの評価、RT97染色による残存軸索の評価を行った。損傷後42日間の運動機能の評価をBBB score (Basso, Beattie and Bresnahan score) とladder rung walking testで行った。知覚機能はvon Frey testで評価した。また損傷後42日目に電気生理学的な検査で脊髄伝導機能の評価を行った。

結果：損傷後7日目の脊髄組織では、ELISA法でSCI-SW群のBDNFの蛋白発現が有意に上昇していることが分かった。また免疫蛍光染色でもBDNFの発現が有意に上昇していた。BDNFと神経系細胞との二重染色ではNeuN、GFAP、Olig2陽性細胞の全てでBDNFが発現しており、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトにおいてBDNFが発現していることが分かった。損傷後42日目における組織評価では、損傷部の残存白質面積と、オリゴデンドロサイトの細胞数が、SCI群に比べてSCI-SW群で有意に多いことが分かった。またSCI-SW群では損傷部の神経軸索数も有意に多くなっていた。運動機能評価ではBBBとladder lung testで、ともにSCI群に比べてSCI-SW群で有意な運動機能の改善がみられた。von Frey testではSCI-SW群で有意な知覚機能の改善がみられた。さらに電気生理学的検査においてはSCI群に比べてSCI-SW群で脊髄伝導性の有意な改善がみられた。

考察および結語：本研究において、脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療によりBDNFの発現の上昇がみられた。また脊髄白質、オリゴデンドロサイト、軸索に対する神経保護効果が確認された。さらに本治療によって運動機能と知覚機能の改善に加え、電気生理学的な脊髄機能の改善が確認された。したがって低出力体外衝撃波治療は脊髄損傷の有効な治療法となる可能性がある。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療による脳由来神経栄養因子の発現促進と神経保護効果の検討

所属専攻・分野名 医科学専攻・整形外科学 分野

学籍番号 B5MD5107 氏名 松田 倫治

研究の要旨：本研究は、ラット脊髄損傷モデルに対して低出力体外衝撃波治療を行い、脳由来神経栄養因子（BDNF）の発現が促進するか否かと神経保護効果を検討した研究である。脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療により BDNF の発現が上昇すること、また脊髄白質、オリゴデンドロサイト、軸索に対する神経保護効果が確認された。さらに本治療によって運動機能と知覚機能の改善に加え、電気生理学的な脊髄機能が改善することが確認された。

斬新さ：BDNF は脊髄損傷後の神経保護効果に関与する代表的な神経栄養因子であり脊髄損傷の治療に関して多くの報告がある。しかし BDNF はタンパク質であるため生体内半減期が短く、標的組織や細胞への送達が難しいことから治療には脊髄への局所投与が必要となるため、臨床応用は困難であった。本研究は低出力体外衝撃波の照射により損傷脊髄部における BDNF タンパク発現上昇を初めて明らかにした研究であり斬新さを有している。

重要性：現在日本には約10 万人の脊髄損傷患者がおり、毎年約5000 人の新たな受傷者が生じている。脊髄は損傷後の神経再生が極めて生じ難く、現在でも脊髄損傷に対する有効な治療法は確立されていない。脊髄損傷治療の他の候補として薬剤投与や細胞移植治療が試みられているが、薬剤投与には副作用の可能性があり、細胞移植には倫理面、安全面での問題がある。低出力体外衝撃波治療は、既に臨床で広く行われており、他の治療法に比べて患者の負担が少なく、安全・簡便で有効な治療法になる可能性が高く重要な研究と言える。

実験方法の正確性：実験は周到に練られた計画のもとに行われ、再現性、正確性が高いと考えられる。また、得られたデータの統計処理も適切になされており、信頼性の高い研究である。

表現の明瞭さ：これまでの問題点を明確に指摘し、研究目的、方法、実験結果、考察を簡潔、明瞭に記載していると考ええる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。